

4. Есть основание полагать, что воздействие данных физических и химических агентов на хромосомальную ДНК является процессом денатурации-ренатурации.

5. В случае HCl обнаружено неполное восстановление первоначальной величины коэффициента α , которое объясняется нетождественной ренатурацией.

6. NH₂ группы хромосомальных белков вносят какой-то вклад в процесс связывания АО с ДНК:

Summary

The effect of several agents on chromosomes obtained from salivary glands of *Chironomus* has been studied by the method of luminescent analysis.

It has been shown that the treatment with HCl, acetic acid, formamide and high temperature changes the spectrum of luminescence of the giant chromosomes comparing to the control. In case of treatment with HCl it has been found that as a result of denaturation the coefficient α have incomplete restoration comparing to the original value. The agents studied are ordered in a row according to the level of their denaturing effect.

The effect of NH₂-groups of chromosomal proteins on the type of fluorescence of chromosomes was not significant.

ЛИТЕРАТУРА

- Зеленин А. В. 1967. Люминесцентная цитохимия нуклеиновых кислот. М., «Наука».
Лобашев М. Е. 1947. Вестник ЛГУ, 8: 10.
Мармур Д., Р. Раунд, К. Шильдкраут. 1965. В сб.: Нуклеиновые кислоты. М., «Мир»: 238.
Смирнов А. Ф., М. М. Цирульников. 1969. В сб.: Механизмы биологических процессов. Изд. ЛГУ, 19.
MacInnes J. W., R. B. Uretz. 1966. Proc. Natl. Acad. Sci., 55: 1109.
MacInnes J. W., R. B. Uretz. 1967. J. Cell. Biol., 33: 597.
Nash D., W. Plaut. 1964. Proc. Natl. Acad. Sci., 51: 731.
Rigler R. 1967. Acta Physiol. Scand., 67, suppl. 267.
Rigler R., D. Killander, L. Bollund, N. R. Ringertz. 1969. Exp. Cell. Research, 55: 215.
Ristow H., S. Arentz. 1968. Bioch. et Biophys. Acta, 157: 178.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТА ТЕМПЕРАТУРНОГО ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ НА ЧАСТОТУ ВТОРИЧНОГО НЕРАСХОЖДЕНИЯ И ПОТЕРИ X-ХРОСОМ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ САМОК ДРОЗОФИЛЫ *

М. М. Тихомирова, Н. В. Глотов

Одним из основных феноменов, наблюдаемых при изучении радиационно-индуцированной анеуплоидии по X-хромосоме в оогенезе дрозофилы, является значительное преобладание числа самцов XO над числом самок XXU в потомстве облученных самок. С увеличением дозы облучения это преобладание становится все более выраженным. Анализ разнообразных экспериментальных данных — кривых, доза-эффект (Traut, 1962, 1964), зависимости частоты радиационно-индуцированных гипоплоидов от размера хромосомы (Grell, Mupoz, Kirschbaum, 1966; Закиев, Глотов, 1969), сравнительной эффективности рентгеновых лучей и быстрых нейтронов (Тимофеев-Ресовский и др., 1971) и, наконец, эффекта температурного последствия (Тихомирова, 1961, 1967; Тихоми-

* Работа выполнена в Ленинградском государственном университете на кафедре генетики и селекции и в Институте медицинской радиологии АМН СССР в Обнинске.

рова и др., 1964, 1967) — приводит к заключению, что XO самцы возникают в основном вследствие повреждения при облучении X -хромосом с их последующей элиминацией.

Эффект температурного последствия, заключающийся в том, что относительно индифферентный фактор — высокая температура, действующая в определенный промежуток времени после облучения, — увеличивает эффективность рентгеновых лучей, был продемонстрирован М. М. Тихомировой на 8 линиях дрозофилы разного генотипа при анализе частоты самцов XO в потомстве облученных самок. Для разных линий он составлял 50—320%. Наличие эффекта последствия было объяснено возникновением при облучении не только истинных разрывов хромосом, приводящих к их потере, но возникновением и потенциальных повреждений, судьба которых зависит от последующих условий. В обычных условиях потенциальные повреждения с некоторой вероятностью восстанавливаются и не могут быть зарегистрированы. В необычных условиях — при действии высокой температуры после облучения — они реализуются с большей вероятностью в истинные разрывы, что приводит к возрастанию частоты образования яйцеклеток, не несущих X -хромосому, и, следовательно, к увеличению частоты патроклинных самцов XO (Тихомирова, 1961, 1967; Тихомирова и др., 1964, 1967). При учете самок XXY (оценке собственно нерасхождения хромосом) на линии Кантон-С удалось показать при суммировании многих вариантов опыта статистически достоверный эффект последствия того же порядка, что и при учете самцов XO . Эти результаты, указывающие на роль повреждения структуры хромосом в их последующем распределении в мейозе, а не только в потере хромосом, имеют принципиальное значение и будут рассмотрены в отдельной работе.

Систематическое изучение радиационно-индуцированной анеуплоидии у самок дрозофилы, существенно отличающихся по структуре генотипа и спонтанным частотам первичного и вторичного нерасхождения X -хромосом, было проведено Н. В. Гловым с соавт. (Глов, 1968, а, б, в; Глов, Сушкин, 1967; Глов, Семенова, 1968). При анализе полученных результатов было высказано предположение, что регистрируемая при облучении частота нерасхождения X -хромосом является суммой двух противоположно направленных процессов. Один из них приводит к повышению частоты нерасхождения хромосом с вероятностью β , другой — понижает регистрируемую частоту нерасхождения, по-видимому, за счет возникновения аберраций X -хромосом (и их последующей элиминации) с вероятностью α . Количественная гипотеза, сформулированная на этой основе, показала хорошее соответствие с экспериментальными данными (Глов, 1968в; Glotoff et al., 1967). Однако сразу же (Глов, 1968в) были указаны недостатки гипотезы, в частности она не объясняла характера изменения при облучении частоты исключительных самцов. Кроме того, совершенно произвольно, вне связи со схемой мейоза, задавался способ вычисления частот исключительных самок и самцов (Глов, Сушкин, 1967). Создавалось впечатление, что именно последнее обстоятельство обуславливает слабости гипотезы. В связи с этим Н. В. Гловым была рассмотрена полная схема распределения хромосом в мейозе при облучении. Это привело к введению новых определений понятий «частота нерасхождения хромосом» и «частота потери хромосом» и, соответственно, к новой формулировке гипотезы. Последняя принципиально ничего не меняет в отношении интерпретации частот исключительных самок, но позволяет объяснить и характер изменения частот исключительных самцов.

Подробное обоснование и формулировка модификации гипотезы будут даны в другой работе. Здесь мы лишь укажем на следствия, вы-

текающие из гипотезы, и методы расчета частот нерасхождения и потери хромосом. Предсказания, касающиеся частот исключительных самок (Глотов, 1968в), полностью сохраняются для частот нерасхождения хромосом. Для частоты потери хромосом следует ожидать ее возрастания всякий раз, когда возрастает вероятность возникновения или реализации хромосомных повреждений. Частоты нерасхождения и потери X-хромосом вычисляются следующим образом:

$$\text{Частота нерасхождения X-хромосом} = 2 \frac{\text{Число исключительных самок}}{\text{Число регулярных самок} + \text{Число исключительных самок и самцов};}$$

$$\text{Частота потери X-хромосом} = \frac{\text{Число исключительных самцов} - \text{Число исключительных самок}}{\text{Число регулярных самок} + \text{Число исключительных самок и самцов}}$$

Исходя из всего сказанного, нам представляется интересным изучить эффект температурного последствия на линии с высокой частотой вторичного нерасхождения X-хромосом. Такое исследование, с одной стороны, расширяет область изучения этого эффекта (Тихомирова, 1961, 1967; Тихомирова и др., 1964, 1967) и позволяет яснее понять его механизмы. С другой же стороны, оно является одним из способов проверки упомянутой выше гипотезы (Глотов, 1968в). На основании гипотезы и данных, полученных ранее при изучении температурного последствия, следует ожидать, что применение высокой температуры после облучения еще больше уменьшит частоту радиационно-индуцированного вторичного нерасхождения X-хромосом и повысит (см. выше) частоту потери X-хромосом.

Материал и методика. В работе использованы самки с высокой частотой вторичного нерасхождения X-хромосом — *u/y sc⁸¹In49 v sc⁸/Y*. Трехдневные виргинные самки облучались рентгеновыми лучами (доза — 2 кр, мощность дозы — 170 р/мин, напряжение — 200 кВ), через 40 мин после облучения самки подвергались температурному воздействию (+37°С в течение 8 ч). После этого тотчас ставились индивидуальные скрещивания с самцами *Berlin wild*. Учитывалось потомство от 4-дневной яйцекладки. Вычисление частот нерасхождения и потери хромосом производилось указанным выше способом.

Экспериментальная часть и обсуждение. Результаты опытов приведены в таблице.

Частота вторичного нерасхождения и потери X-хромосом при различных способах воздействия на самок XXУ дрозофилы

Вариант опыта	Число регулярных мух			Число исключительных мух		Нерасхождения X-хромосом, %	Потери X-хромосом, %
	самок	самцов		самок	самцов		
		уу	у+				
Без воздействия	4950	1722	1897	3132	3782	52,8±0,81	5,5±0,59
Температура 37°	5309	1782	2111	3095	3572	51,6±0,80	4,0±0,58
Σ	10259	3504	4008	6227	7354	52,2±0,57	4,7±0,41
Облучение 2 кр	9426	3254	3469	4723	6303	46,2±0,59	7,7±0,44
Облучение 2 кр + температура 37°	8975	3009	3354	4116	5670	43,8±0,60	8,3±0,44

Можно видеть, что спонтанная частота вторичного нерасхождения X-хромосом (52,8%) и спонтанная частота потери X-хромосом (5,5%), близка к найденному в этой линии ранее (Глотов, 1968б), если использовать способ расчета частот, применяемый в настоящей работе. Температурное воздействие в наших условиях опыта не влияет на распределение хромосом в мейозе: разницы между частотами нерасхождения и потери хромосом при температурном воздействии и без него статистически недостоверны ($P > 0,5$). Поэтому мы объединили данные по этим двум вариантам опыта (см. таблицу).

Облучение дозой 2 кр уменьшает частоту нерасхождения на 6% ($P < 0,001$) и увеличивает частоту потери на 3% ($P < 0,001$) аналогично тому, что наблюдалось и в предыдущих опытах (Глотов, 1968б).

Применение температурного воздействия после облучения снижает частоту нерасхождения до 43,8%, что на 8,4% ниже спонтанного уровня и на 2,4% ниже, чем при воздействии только рентгеновых лучах ($P < 0,001$). Частота потери X-хромосом при воздействии температурой 37° после облучения составила 8,3%, однако разница между этим значением и полученным при воздействии одним облучением статистически недостоверна ($P > 0,6$).

Таким образом, для частоты нерасхождения получено ранее не наблюдавшееся, но предсказанное гипотезой отрицательное температурное последствие. Достоверного положительного температурного последствия на частоту потери хромосом, ожидаемого на основании предыдущих исследований (Тихомирова, 1961, 1967; Тихомирова и др., 1964, 1967) и предсказанного гипотезой, на имеющемся материале не обнаружено, хотя тенденция в сторону большей эффективности совместного применения облучения и температуры по сравнению с одним облучением и наблюдается.

Наличие эффекта последствия при вторичном нерасхождении хромосом и подтверждение обсуждаемой гипотезы (Закрев, Глотов, 1969; Тимофеев-Ресовский и др., 1971) ставят вопрос об общем методе оценки эффекта последствия. Применявшийся ранее метод (Тихомирова и др., 1964) был эффективным для линий, в которых спонтанный уровень анеуплоидии практически одинаков и пренебрежимо мал в сравнении с эффектом облучения. В настоящей же работе, выполненной на самках ХХУ, спонтанный уровень нерасхождения хромосом много больше лучевого эффекта, а спонтанный уровень потери хромосом сравним с эффектом облучения. В связи с этим для данного случая становится неподходящей формула вычисления оценки эффекта последствия (Тихомирова и др., 1964):

$$P = \frac{rt - (r + t)}{r + t}.$$

Можно, конечно, вместо rt , r и t брать приращения (положительные или отрицательные), полученные для соответствующего воздействия по сравнению с контролем. Полученная таким образом новая оценка эффекта последствия (P^*) практически совпадает с прежней оценкой (P) для линий с низкой частотой первичного нерасхождения X-хромосом (Тихомирова, 1961, 1967; Тихомирова и др., 1964, 1967). Для самок ХХУ, с которыми проводились описанные опыты, P^* для частоты нерасхождения хромосом равно -40%, а для потери хромосом (если бы наблюдаемая разница была достоверной) +20%. Эти результаты близки к наблюдавшимся на мышах Кавтон-С и С-3 (Тихомирова, 1961; Тихомирова и др., 1967). Полное решение задачи оценки эффекта последствия, однако, связано с обсуждаемой гипотезой и должно сводиться к сравнению коэффициентов α и β , вычисленных при воздей-

ствии только облучением, с коэффициентами α' и β' , вычисленными при совместном применении облучения и температуры.

В заключение следует отметить, что дальнейшее систематическое изучение эффекта последствия, особенно для линий с существенно различной частотой вторичного нерасхождения хромосом, и количественный теоретический анализ этих данных представляют несомненный интерес. Это важно как для изучения собственно эффекта последствия, так и для понимания механизмов снижения частоты вторичного нерасхождения хромосом при облучении.

ВЫВОДЫ

Исследовались частоты вторичного нерасхождения и потери хромосом при воздействии на самок *XXY* (*y/y sc^{Sl}In49 v sc⁸/Y*) высокой температурой, рентгеновыми лучами и высокой температурой после облучения. Наблюдается отрицательный эффект последствия на частоту нерасхождения хромосом. Эффект последствия на частоту потери хромосом на имеющемся материале статистически недостоверен. Полученные результаты подтверждают предложенную ранее гипотезу (Глотов, 1968b) о механизмах радиационно-индуцированной анеуплоидии.

Summary

The frequency of secondary non-disjunction and the loss of X-chromosomes after treatment of *Drosophilla* *XXY* females (*y/y sc^{Sl}In49 v sc⁸/Y*) with high temperature, X-rays (2 kr) and high temperature after irradiation were investigated. The negative after-effect on the frequency of non-disjunction has been estimated. The after-effect on the frequency of the loss of X-chromosome is insignificant. The results support previously proposed hypothesis (Glutoff, 1968b) on the mechanisms of radiation-induced aneuploidy.

ЛИТЕРАТУРА

- Глотов Н. В. 1968a. Генетика, IV, 4: 60—64.
Глотов Н. В. 1968b. Генетика, IV, 6: 55—61.
Глотов Н. В. 1968в. Генетика, IV, 7: 24—29.
Глотов Н. В., А. Г. Сушкнн. 1967. Генетика, 8: 60—64.
Глотов Н. В., В. А. Семенова. 1968. Генетика, IV, 2: 124—128.
Закриев Р. К., Н. В. Глотов. 1969. Генетика, V, 11: 99—105.
Тимофеев-Ресовский Н. В., Е. К. Гинтер, Н. В. Глотов, В. И. Иванов. 1971. Генетика, VII, 4: 42—51.
Тихомирова М. М. 1961. Исслед. по генетике, 1. Изд. ЛГУ: 19—24.
Тихомирова М. М. 1967. Исслед. по генетике, 3. Изд. ЛГУ: 62—71.
Тихомирова М. М., А. А. Джимелли, О. Я. Беляцкая. 1967. Генетика, 5: 95—104.
Тихомирова М. М., С. Е. Дуброва, И. М. Януш. 1964. Исслед. по генетике, 2. Изд. ЛГУ: 65—68.
Glutoff N. W., Yu. M. Svirezhev, N. W. Timofeeff-Ressovsky. 1967. *Studia biophysica*, 4: 321—327.
Grell R. F., E. R. Munoz, W. F. Kirschbaum. 1966. *Mut. Res.*, 3: 491.
Traut H. 1962. *Habilitationsschrift*. Heidelberg.
Traut H. 1964. *Mut. Res.*, 1, 2: 157.